

УДК: 51-76:577.322:539.19

Идентификация новых потенциальных ингибиторов белка gp41 ВИЧ-1 методами виртуального скрининга и молекулярного моделирования

Кашин И.А.¹, Тузиков А.В.², Андрианов А.М.^{1}**

¹*Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Объединенный институт проблем информатики, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Проведен виртуальный скрининг химических соединений, способных имитировать фармакофорные свойства моноклонального антитела 10E8, проявляющего нейтрализующую активность против широкого набора вариантов ВИЧ-1. Методами докинга и молекулярной динамики выполнена оценка эффективности связывания найденных соединений с участком MPER (Membrane-Proximal External Region) белка gp41 ВИЧ-1, ответственным за слияние мембран вируса и клетки-мишени. Обнаружены восемь химических соединений, характеризующихся отрицательными значениями свободной энергии образования структурных комплексов с этим функционально важным участком ВИЧ. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования идентифицированных соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния ВИЧ, блокирующих участок MPER белка gp41.

Ключевые слова: *ВИЧ-1, белок gp41, моноклональное антитело 10E8, пептидомиметики, виртуальный скрининг, молекулярное моделирование, ингибиторы слияния ВИЧ.*

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы для терапии ВИЧ в клинической практике используются более 30 лекарственных препаратов, которые в зависимости от механизма действия делятся на классы, включающие ингибиторы обратной транскриптазы, протеазы, интегразы и ингибиторы проникновения (слияния) [1–6]. Однако высокая генетическая изменчивость ВИЧ-1 приводит к выработке устойчивости (резистентности) к определенному препарату через некоторое время после начала его применения [7]. С 1996 года для лечения ВИЧ-инфекции широко используется метод высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) [7], основной целью которого является преодоление устойчивости вируса к отдельным антиретровирусным препаратам на основе комбинации высокоактивных лекарственных средств, обладающих различными механизмами действия. В настоящее время ВААРТ формирует методологическую основу лечения больных с ВИЧ-инфекцией [7]. Применение ВААРТ значительно увеличило продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных пациентов и повысило ее качество, снизило количество летальных исходов, уменьшило частоту развития СПИДа и ассоциированных с ним состояний [7, 8]. Тем не менее, стандартные схемы ВААРТ имеют ряд серьезных недостатков, к числу которых в первую очередь следует отнести

** andrianov@iboch.bas-net.by

токсичность используемых препаратов, часто вызывающую тяжелые побочные эффекты (вплоть до индивидуальной непереносимости), появление и передачу резистентных штаммов, взаимодействие лекарств между собой и их высокую стоимость [7]. Кроме того, современные принципы терапии ВИЧ-инфекции требуют глубокого понимания динамики процесса вирусной репликации, противовирусной эффективности, фармакокинетики и токсичности отдельных препаратов, а также характера взаимодействия отдельных препаратов, используемых в комбинации. При этом критическими факторами, обеспечивающими успех лечения, являются подбор оптимальной антиретровирусной терапии и эффективная профилактика.

Необходимость пожизненного непрерывного применения нескольких терапевтических препаратов и связанная с этим токсичность и возникновение резистентности [7, 8] требуют разработки новых анти-ВИЧ агентов с новыми механизмами действия. Большинство из применяемых в ВААРТ препаратов нацелены на вирусные ферменты: обратную транскриптазу и протеазу, однако они не способны предотвращать проникновение вируса в клетку-мишень, что повышает внимание к ингибиторам проникновения (слияния) ВИЧ-1, которые способны вмешиваться в ранние стадии жизненного цикла вируса путем блокирования процессов адсорбции и слияния мембран [2, 6]. К преимуществам этих соединений можно отнести создание ими препятствия проникновению вируса в новые целевые клетки, уменьшение числа латентных резервуаров ВИЧ, возможность совместного использования с другими агентами, замедление общей скорости внедрения ВИЧ, что делает вирус более чувствительным к другим ингибиторам [2].

ВИЧ-1 проникает в клетку-хозяина путем последовательного взаимодействия белка gp120 оболочки вируса с первичным рецептором CD4 и хемокиновыми корецепторами CCR5 или CXCR4 [9–11]. В результате этих взаимодействий происходят структурные изменения gp120, которые активируют трансмембранный белок gp41, что приводит к слиянию оболочки вируса с клеточной мембраной и последующему внедрению генома ВИЧ в клетку-мишень [9–11]. В последние годы обнаружены моноклональные антитела (МКА) к ВИЧ-1 с широкой нейтрализацией, распознающие консервативные участки связывания белка gp120 с рецептором CD4 и корецепторами, а также важный для слияния мембраны вируса с мембраной клетки-мишени участок MPER (Membrane-Proximal External Region) белка gp41 [12–15]. Среди этих МКА следует особо отметить антитела VRC01, PG9, PGT128 и 10E8, нейтрализующая активность которых превышает 90% [15]. В частности, одно из самых эффективных антител к ВИЧ-1 – МКА 10E8 – нейтрализует около 98% вирионов из различных подтипов вируса путем специфического связывания с участком MPER белка gp41 [16]. Этот консервативный гидрофобный участок эктодомена gp41 состоит из двух α -спиралей, соединенных короткой “шарнирной” областью (петлей), включает 22 аминокислотных остатка и формирует линейные эпитопы для связывания ряда антител с широкой вирусной нейтрализацией [16].

Очевидно, что обнаружение антител с широким спектром нейтрализующей активности и установление механизмов их действия является важным шагом к разработке эффективной вакцины против ВИЧ-1. Однако высокая вариабельность вируса, отсутствие для ВИЧ-инфекции адекватной модели на животных, возможность оценки безопасности, иммуногенности и эффективности вакцинного препарата только с помощью клинических исследований создают серьезные препятствия на этом пути [12–15]. Поэтому представляется актуальным поиск низкомолекулярных соединений, способных имитировать фармакофорные свойства антиген-связывающих фрагментов антител с широкой вирусной нейтрализацией. Для решения этой задачи может быть привлечен виртуальный скрининг библиотек химических соединений, использующий в качестве набора входных данных аминокислотные остатки антител, которые вносят определяющий вклад в их специфические взаимодействия с белками оболочки ВИЧ.

Ранее [17, 18] данный подход, предложенный в работе [19], был использован нами для идентификации потенциальных анти-ВИЧ агентов, “нацеленных” на петлю V3 белка gp120 [17], обеспечивающую взаимодействие вируса с корецепторами CCR5 и CXCR4 [9–11], и его CD4-связывающий участок [18]. В первом случае найденные соединения представляли наиболее вероятные пептидомиметики нейтрализующего антитела 3074 [17], а во втором – первичного рецептора CD4 [18]. За последние годы Международный банк белков PDB (<http://www.rcsb.org/pdb>) пополнился рядом файлов, описывающих структуры анти-ВИЧ антител с широкой (более 90%) вирусной нейтрализацией в комплексах с функционально консервативными участками оболочки вируса, отличными от указанных эпитопов белка gp120 [20, 21]. Очевидно, что в результате компьютерного поиска пептидомиметиков этих антител с помощью подхода [19] могут быть найдены потенциальные терапевтические агенты с новыми механизмами действия, что позволит сформировать наборы соединений различных классов – перспективных кандидатов на роль базовых структур для создания эффективных противовирусных препаратов нового поколения.

В настоящей работе проведен виртуальный скрининг химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА 10E8 – и выполнена оценка их ингибиторной активности с последующим отбором молекул, представляющих наиболее вероятные ингибиторы проникновения ВИЧ-1, механизм действия которых основан на блокировании сегмента MPER оболочки вируса, критического для ее слияния с мембраной клетки-мишени.

Для решения этой задачи проведены следующие исследования:

1. Осуществлены молекулярно-динамические (МД) расчеты структурного комплекса участка MPER белка gp41 с Fab-фрагментом МКА 10E8 [16] и идентифицированы аминокислотные остатки антитела, ответственные за связывание.

2. На основе полученных данных сформированы модели фармакофора для компьютерного скрининга потенциальных пептидомиметиков антитела, и с помощью методов, реализованных в программном обеспечении веб-сервера perMMsMIMIC [19], обнаружены химические соединения, удовлетворяющие заданным критериям поиска.

3. Методами молекулярного докинга построены структурные комплексы найденных соединений с пептидом MPER ВИЧ-1, проведен их анализ и отобраны лучшие по значению оценочной функции молекулы.

4. Методами молекулярной динамики исследованы конформационные и энергетические характеристики комплексов и рассчитаны средние значения свободной энергии их образования.

В результате проведенных исследований отобраны химические соединения, характеризующиеся отрицательными значениями свободной энергии образования структурных комплексов с функционально важным участком MPER оболочки ВИЧ. Полученные данные свидетельствуют о перспективности их использования в работах по созданию лекарственных препаратов против ВИЧ/СПИД нового поколения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Структурный комплекс участка MPER белка gp41 ВИЧ-1 с Fab-фрагментом МКА 10E8, установленный методом рентгеновской кристаллографии [16], заимствовали из базы Международного банка белков (код 4G6F) [20, 21]. Начальные координаты атомов водорода определяли с привлечением модуля tleap пакета AmberTools15 (<http://ambermd.org/>) [22]. МД расчеты проводили с помощью программного пакета AMBER 11 (<http://ambermd.org/>) в силовом поле Amber (набор параметров ff10) [22] с явным заданием растворителя (трехточечная модель воды TIP3P [23]). Перед проведением МД расчетов энергию структурного комплекса минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (1000 шагов).

Затем осуществляли нагрев системы от 0 до 310 К в течение 1.4 нс при постоянном объеме ячейки. На следующем шаге в течение 1 нс уравнивали давление в системе, установленное на значении 1 атм, посредством динамического изменения размеров ячейки согласно схеме Берендсена и соавторами [22] с характерной частотой 2.0 пс^{-1} . На этапах нагрева и уравнивания давления накладывали дополнительные ограничения на положения атомов системы с помощью потенциала параболической формы с силовыми постоянными, равными соответственно 1.0 и 0.5 ккал/моль. Далее эти ограничения снимали и вновь подвергали систему релаксации в течение 1 нс. На заключительном шаге моделирования проводили расчет МД траектории длительностью 60 нс в изобарно-изотермических условиях ($T = 310 \text{ К}$, $P = 1.0 \text{ атм}$). Для контроля температуры использовали термостат Ланжевена (<http://ambermd.org/doc10/>) [22] с частотой столкновений 2.0 пс^{-1} . Контроль давления в ячейке осуществляли с помощью баростата Берендсена с характерным временем 1.0 пс. Интегрирование уравнений движения Ньютона выполняли с помощью алгоритма “leap-frog” (<http://ambermd.org/doc10/>) с шагом интегрирования 2.0 фс. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод суммирования Эвальда [22]. Для фиксации длин всех связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<http://ambermd.org/>) [24]. Максимальное расстояние, на котором учитывали невалентные взаимодействия, задавали равным 8.0 Å.

Для оценки структурной вариабельности комплекса использовали значения среднеквадратичных отклонений (СКО) между координатами атомов основной цепи его динамических структур и стартовой (кристаллографической) модели. Кроме того, для этой цели привлекали средние значения СКО атомных координат, полученные в результате сопоставления динамических структур между собой. Расчеты СКО проводили с помощью программного модуля ptrau пакета AmberTools15.

Расчет энтальпии связывания белка gp41 с МКА 10E8 и оценку вкладов аминокислотных остатков антитела в свободную энергию образования комплекса проводили с помощью процедуры MM-PB/SA [25], входящей в состав пакета AMBER 11. В качестве критерия устойчивости комплекса использовали средние значения энтальпии, которые вычисляли для 2000 “точек” МД траектории, разделенных временным интервалом длительностью 10 пс. Анализ МД траектории выполняли с помощью программного пакета AmberTools15.

Для виртуального скрининга химических соединений с заданными свойствами веб-сервер рерMMsMIMIC использует данные об аминокислотных остатках лиганда пептидной природы, играющих ключевую роль в специфическом связывании с белком-рецептором [19]. При этом на вход сервера могут быть поданы элементы структуры лиганда, включающие различные группы критических для связывания аминокислот, которые взаимодействуют с разными функционально важными участками молекулярной мишени [19]. Следуя этой стратегии, при формировании моделей фармакофора для веб-сервера рерMMsMIMIC использовали аминокислотные остатки Fab-фрагмента МКА 10E8, которые вносят основной вклад в энтальпию связывания антитела с белком gp41 согласно данным, полученным в результате МД расчетов структурного комплекса 10E8/gp41 (см. раздел “Результаты и их обсуждение”).

Поиск пептидомиметиков осуществляли в базе данных MMsINC (<http://mms.dsfarm.unipd.it/MMsINC.html>) [26], содержащей 17 миллионов конформеров, рассчитанных для 3.9 миллиона коммерчески доступных химических соединений, с привлечением пяти методов [19], которые включают различные комбинации алгоритма “сверхбыстрого распознавания формы” [27] с алгоритмами поиска по фармакофорам [28, 29]. В результате получили набор потенциальных пептидомиметиков МКА 10E8, из которого для дальнейших исследований отобрали химические соединения, удовлетворяющие “правилу пяти” Липинского, которое накладывает на лиганд, взаимодействующий с молекулой-мишенью, условия подобия лекарству [30]. С этой

целью использовали фильтр Липинского, реализованный в программном пакете DruLiTo [31]. Эффективность связывания идентифицированных соединений с участком MPER белка gp41 ВИЧ-1 оценивали методами молекулярного докинга.

Молекулярный докинг выполняли с помощью программы AutoDock Vina [32] с учетом конформационной подвижности лиганда, перебирая все его возможные ориентации относительно молекулы-рецептора. Структуру пептида MPER белка gp41 выделяли из его комплекса с Fab-фрагментом МКА 10E8 [16] (код 4G6F в PDB). Атомы водорода добавляли с привлечением пакета AutoDockTools (<http://autodock.scripps.edu/resources/adt>) [33]. При ранжировании структурных комплексов по величине энергии связывания использовали семь оценочных функций, реализованных в AutoDock Vina [32], AutoDock 4 [33], NNScore1 [34], NNScore 2.01 [35], RFScore-PDBbind2007, RFScore-PDBbind2012 [36] и Cyscore_V1.1.2 [37]. Для каждой оценочной функции выбирали пять лучших решений докинга, что позволило идентифицировать 35 соединений-лидеров, структурные комплексы которых с пептидом MPER белка gp41 исследовали методами молекулярной динамики.

МД расчеты длительностью 30 нс проводили по схеме, использованной для МД моделирования структурного комплекса Fab-фрагмента МКА 10E8 с пептидом MPER (см. выше), с помощью пакета AMBER 11 в силовом поле AMBER [22] в изобарно-изотермических условиях ($T = 310$ К, $P = 1.0$ атм.) с набором параметров ff10 при явном задании растворителя (модель воды TIP3P [23]) с последующей оценкой методом MM-GB/SA [25] свободной энергии образования надмолекулярных структур. Для параметризации лигандов использовали обобщенное силовое поле GAFF [38] программы Amber. Начальные координаты атомов водорода пептида MPER белка gp41 определяли с помощью модуля xleap пакета AmberTools15 [22]. Средние значения свободной энергии образования комплексов и вклады индивидуальных остатков пептида MPER в энтальпию связывания вычисляли с помощью процедуры MM-GB/SA [25]. При этом первые 5 нс МД моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Свободную энергию связывания рассчитывали для 500 точек МД траектории, разделенных временным интервалом длительностью 50 пс.

Специфические π - π взаимодействия и межмолекулярные водородные связи в структурных комплексах потенциальных пептидомиметиков МКА 10E8 с пептидом MPER белка gp41 ВИЧ-1 анализировали с помощью программы BINANA [39]. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия идентифицировали средствами программы LigPlot [40].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 показана временная зависимость СКО между координатами атомов динамических структур комплекса gp41/10E8 и его стартовой модели, установленной методом рентгеновской кристаллографии [16]. Как видно из рис. 1, в течение первых 40 нс МД расчетов исследуемый комплекс подвергается значительным структурным перестройкам, однако в последующие 20 нс эта надмолекулярная структура проявляет относительную конформационную стабильность. Этот вывод, сделанный на основе визуального анализа приведенной на рис. 1 зависимости, подтверждают данные о средних значениях СКО атомных координат основной цепи комплекса, вычисленных для его динамических структур и стартовой модели. Так, для первых 40 нс МД траектории средняя величина СКО составляет 2.55 ± 0.59 Å, а для заключительных 20 нс – 1.63 ± 0.26 Å. Сопоставление динамических структур комплекса между собой также обнаруживает меньшую флуктуации координат его атомов на последних 20 нс МД моделирования: в этом случае средние значения СКО во временных интервалах 1–40 нс и 40–60 нс равны соответственно 2.06 ± 0.61 Å и 1.66 ± 0.36 Å. Полученные данные согласуются с приведенной на рис. 2 временной зависимостью энтальпии связывания МКА 10E8 с белком gp41, анализ которой показывает, что в последние

20 нс МД структуры комплекса характеризуются более низкими и стабильными значениями энергии по сравнению с предшествующими стадиями МД расчетов. Исходя из этих данных, при расчете энтальпийной составляющей свободной энергии образования комплекса и энергии связывания индивидуальных аминокислотных остатков учитывали завершающие 20 нс МД траектории, тогда как первые 40 нс рассматривали как время, необходимое системе для релаксации. Полученное в результате среднее значение энтальпии связывания составило -42.44 ± 6.68 ккал/моль, что указывает на устойчивость комплекса в рассмотренном временном интервале.

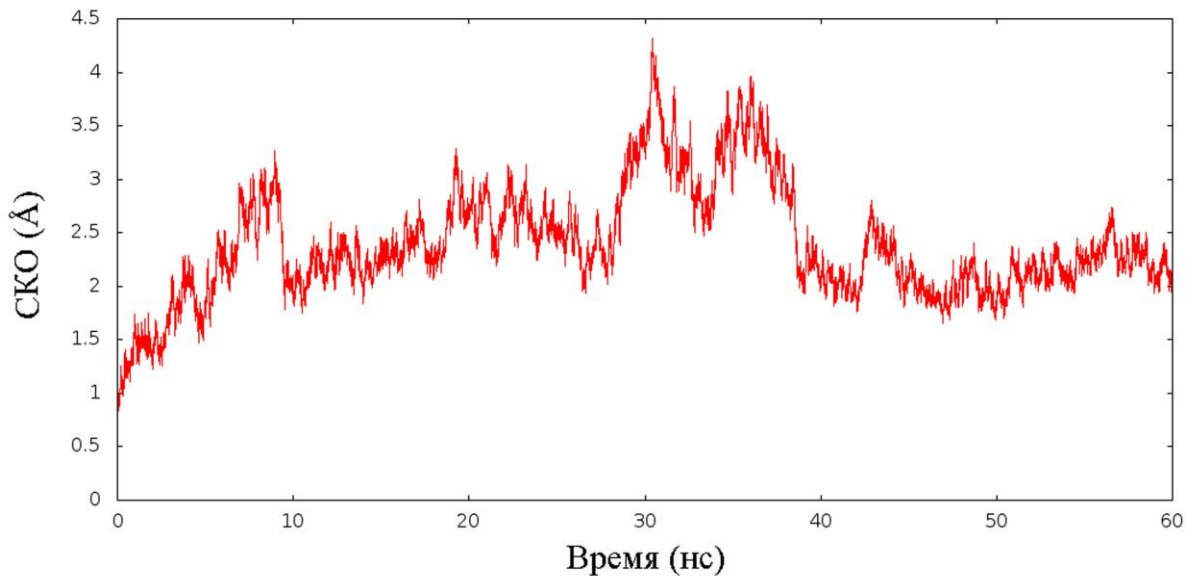


Рис. 1. Временная зависимость СКО между координатами атомов основной цепи динамических структур комплекса gr41/10E8 и его кристаллографической модели [16].

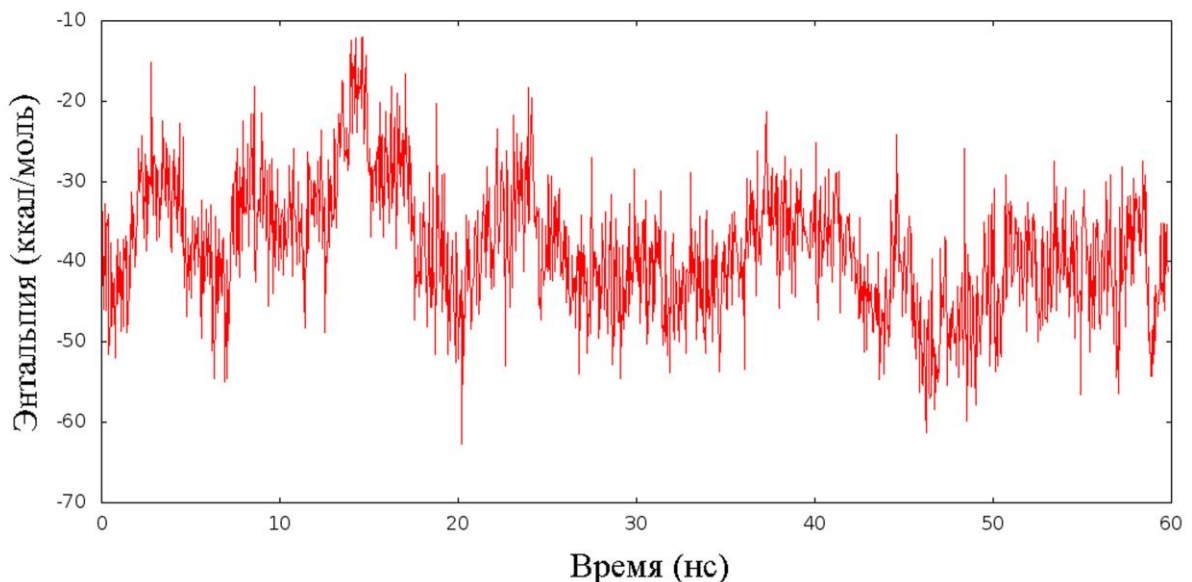


Рис. 2. Временная зависимость энтальпии связывания участка MPER белка gr41 с Fab-фрагментом МКА 10E8.

В табл. 1 представлены средние значения энтальпии связывания аминокислотных остатков МКА 10E8 с белком gr41. Из данных этой таблицы видно, что важная роль в формировании стабильного комплекса МКА 10E8 с белком gr41 ВИЧ-1 принадлежит остаткам Trp-33, Tyr-99, Asp-100, Phe-100a, Trp-100b и Gly-100d тяжелой цепи

иммуноглобулина, для которых абсолютные значения энергии связывания превышают 2 ккал/моль. Поэтому эти остатки МКА 10E8, образующие “горячие точки” связывания антитела с белком gp41, были включены в набор входных данных в качестве базовой модели фармакофора для компьютерного скрининга потенциальных пептидомиметиков антитела. Для расширения набора входных данных проводили разбиение этой модели на отдельные фрагменты, а также привлекали остатки Glu-53, Lys-97 и Tyr-98, участвующие в прямых межмолекулярных контактах с пептидом MPER белка gp41 [16]. Полученный таким образом набор входных данных включал тринадцать различных элементов структуры Fab-фрагмента МКА 10E8 (табл. 2).

Использование набора входных данных, приведенных в табл. 2, позволило обнаружить в базе данных MMsINC 4493 потенциальных пептидомиметика МКА 10E8, из которых 3036 соединений удовлетворяли “правилу пяти” Липинского [30]. В результате оценки эффективности их связывания с пептидом MPER методами молекулярного моделирования были идентифицированы восемь соединений, характеризующихся отрицательными значениями свободной энергии образования надмолекулярных структур. Поэтому эти соединения (рис. 3, табл. 3) были отобраны в качестве наиболее вероятных миметиков антитела.

Таблица 1. Средние значения энтальпии связывания аминокислотных остатков МКА 10E8 с белком gp41 ВИЧ-1

Аминокислотный остаток МКА 10E8 ¹	Энтальпия связывания ² , ккал/моль	
	боковой цепи	полная
Asn-31 ^H	-0.74	-0.54
Trp-33 ^H	-2.07	-2.03
Pro-52b ^H	-0.49	-0.63
Gly-52c ^H	-0.66	-1.39
Tyr-98 ^H	-1.37	-1.04
Tyr-99 ^H	-6.15	-5.67
Asp-100 ^H	-0.80	-3.86
Phe-100a ^H	-5.07	-6.08
Trp-100b ^H	-3.63	-4.20
Gly-100d ^H	-0.22	-2.51
Pro-100f ^H	-0.43	-1.09
Glu-53 ^L	-1.22	-1.22
Arg-95B ^L	-1.17	-1.25

¹Верхние индексы H и L обозначают соответственно аминокислотные остатки тяжелой и легкой цепи МКА 10E8.

²Приведены данные для остатков МКА 10E8, для которых энергия связывания меньше -0.5 ккал/моль.

Анализ структурных комплексов идентифицированных соединений с пептидом MPER белка gp41 (рис. 4) показывает (табл. 4), что для них характерно наличие специфических π - π взаимодействий между π -сопряженными системами лигандов (рис. 3) и молекулы-мишени. При этом во всех рассматриваемых надмолекулярных структурах ароматические кольца лигандов образуют π - и/или T-стэкинг с боковой цепью консервативного остатка Trp-672 белка gp41 (табл. 4). Для пяти соединений (MMs03769994, MMs02374310, MMs03064646, MMs01100460, MMs00760407)

реализуются π - π -взаимодействия с участием остатка Trp-670 белка gp41, а в двух случаях наблюдается π -стэкинг с Trp-666 (MMs03769994) и Trp-678 (MMs01288397).

Таблица 2. Набор моделей фармакофора, использованных для компьютерного скрининга потенциальных пептидомиметиков МКА 10E8

№	Входные данные
1	Trp-33 ^H Tyr-99 ^H Asp-100 ^H Phe-100a ^H Trp-100b ^H Gly-100d ^H
2	Trp-33 ^H Glu53 ^H Lys97 ^H Tyr98 ^H Tyr99 ^H
3	Tyr-99 ^H Asp-100 ^H Phe-100A ^H Trp-100B ^H
4	Lys-97 ^H Tyr-98 ^H Tyr-99 ^H
5	Trp-33 ^H Tyr-98 ^H Tyr-99 ^H
6	Glu-53 ^H Tyr-98 ^H Tyr-99 ^H
7	Trp-33 ^H Lys-97 ^H Tyr-99 ^H
8	Glu-53 ^H Lys-97 ^H Tyr-99 ^H
9	Trp-33 ^H Glu-53 ^H Tyr-99 ^H
10	Trp-33 ^H Lys-97 ^H Tyr-98 ^H
11	Glu-53 ^H Lys-97 ^H Tyr-98 ^H
12	Trp-33 ^H Glu-53 ^H Tyr-98 ^H
13	Trp-33 ^H Glu-53 ^H Lys-97 ^H

Примечание: верхние индексы H обозначают аминокислотные остатки тяжелой цепи МКА 10E8.

Существенный вклад в энергетическую стабилизацию структурных комплексов вносят ван-дер-ваальсовы взаимодействия (табл. 4), образующие широкую сеть межмолекулярных контактов, суммарное число которых варьирует от 39-ти (MMs01100460) до 68-ми (MMs02374310). Данные, приведенные в табл. 4, свидетельствуют о том, что все идентифицированные соединения участвуют в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях с консервативными остатками Trp-666, Trp-670 и Trp-672, расположенными в N-концевой спирали участка MPER белка gp41 (рис. 4). Полученные результаты представляют интерес в связи с тем, что указанные остатки триптофана оказывают существенное влияние на процесс слияния мембран: известно [41, 42], что их замещение на аланин предотвращает проникновение вируса в клетку-мишень. За исключением MMs01288397 и MMs03064646, идентифицированные соединения образуют ван-дер-ваальсовы контакты с остатками Asn-671 и/или Asp-674 белка gp41, которые также являются критическими для функционирования участка MPER белка gp41 ВИЧ-1 [43, 44]. Кроме π - π взаимодействий и ван-дер-ваальсовых контактов, соединения MMs03555010, MMs03769994, MMs01288397 и MMs00760407 формируют водородные связи с Trp-670 (MMs03555010 и MMs00760407), Asn-671 (MMs03769994), Trp-672 (MMs03555010) и Trp-678 (MMs01288397).

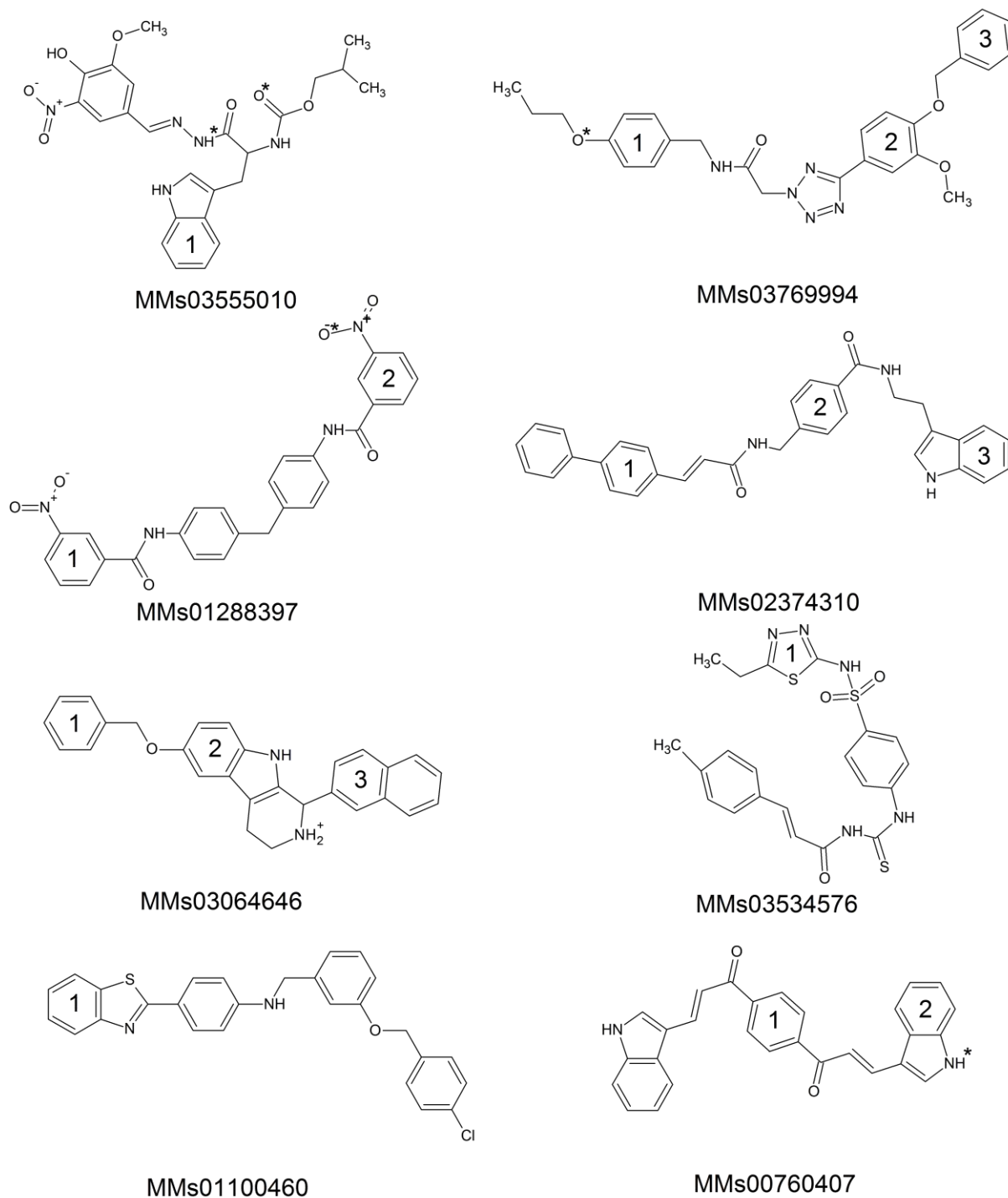


Рис. 3. Двумерные структуры химических соединений – потенциальных пептидомиметиков МКА 10Е8. Указаны коды соединений в базе данных MMsINC [26]. Цифрами обозначены ароматические кольца молекул, участвующие в π - π взаимодействиях с участком MPER белка gp41 (см. текст). Надстрочными звездочками отмечены элементы структуры, образующие межмолекулярные водородные связи (см. текст).

Таблица 3. Химические соединения – наиболее вероятные пептидомиметики МКА 10Е8

Код соединения	Систематическое название	Химическая формула ¹	Масса ¹ (Да)	LogP ²	Число доноров водородной связи ¹	Число акцепторов водородной связи ¹
MMs03555010	(R,Z)изобутил(-(2-(4-гидрокси-3-метокси-5-нитробензилиден)гидразинил)-3-(1H-индол-3-ил)-1-оксопропан-2-ил)карбамата	C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₇	497.508	3.97	4	5
MMs03769994	2-(5-(4-(бензилокси)-3-метоксифенил)-2H-тетразол-2-ил)-N-(4-пропоксибензил)ацетамид	C ₂₇ H ₂₉ N ₅ O ₄	487.56	3.15	1	7
MMs01288397	N,N'-(метилен-бис(4,1-фенилен))бис(3-нитробензамид)	C ₂₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	496.479	2.36	2	2
MMs02374310	N-[2-(1H-индол-3-ил)этил]-4-[[[(E)-3-(4-фенилфенил)акрилоил]амино]метил]бензамид	C ₃₃ H ₂₉ N ₃ O ₂	499.614	4.52	3	2
MMs03064646	(R)-8-(бензилокси)-4-(нафталин-2-ил)-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-в]индол-3-ий	C ₂₈ H ₂₅ N ₂ O+	405.521	0.0	1	1
MMs03534576	(E)-N-((4-(N-(5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил)сульфамойл)фенил)карбамозиоил)-3-(п-толил)акриламид	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O ₃ S ₃	487.629	3.62	3	6
MMs01100460	4-(бензо[d]тиазол-2-ил)-N-(3-((4-хлорбензил)окси)бензил)анилин	C ₂₇ H ₂₁ ClN ₂ OS	456.997	3.00	1	2
MMs00760407	(2E,2'E)-1,1'-(1,4-фенилен)бис(3-(1H-индол-3-ил)проп-2-ен-1-он)	C ₂₈ H ₂₀ N ₂ O ₂	416.48	2.94	2	2

¹Приведенные данные заимствованы из базы данных MMsINC [26].

²LogP – липофильность соединения (коэффициент распределения в системе н-октанол-вода) – рассчитан с помощью программы Drug Likeness Tool [31].

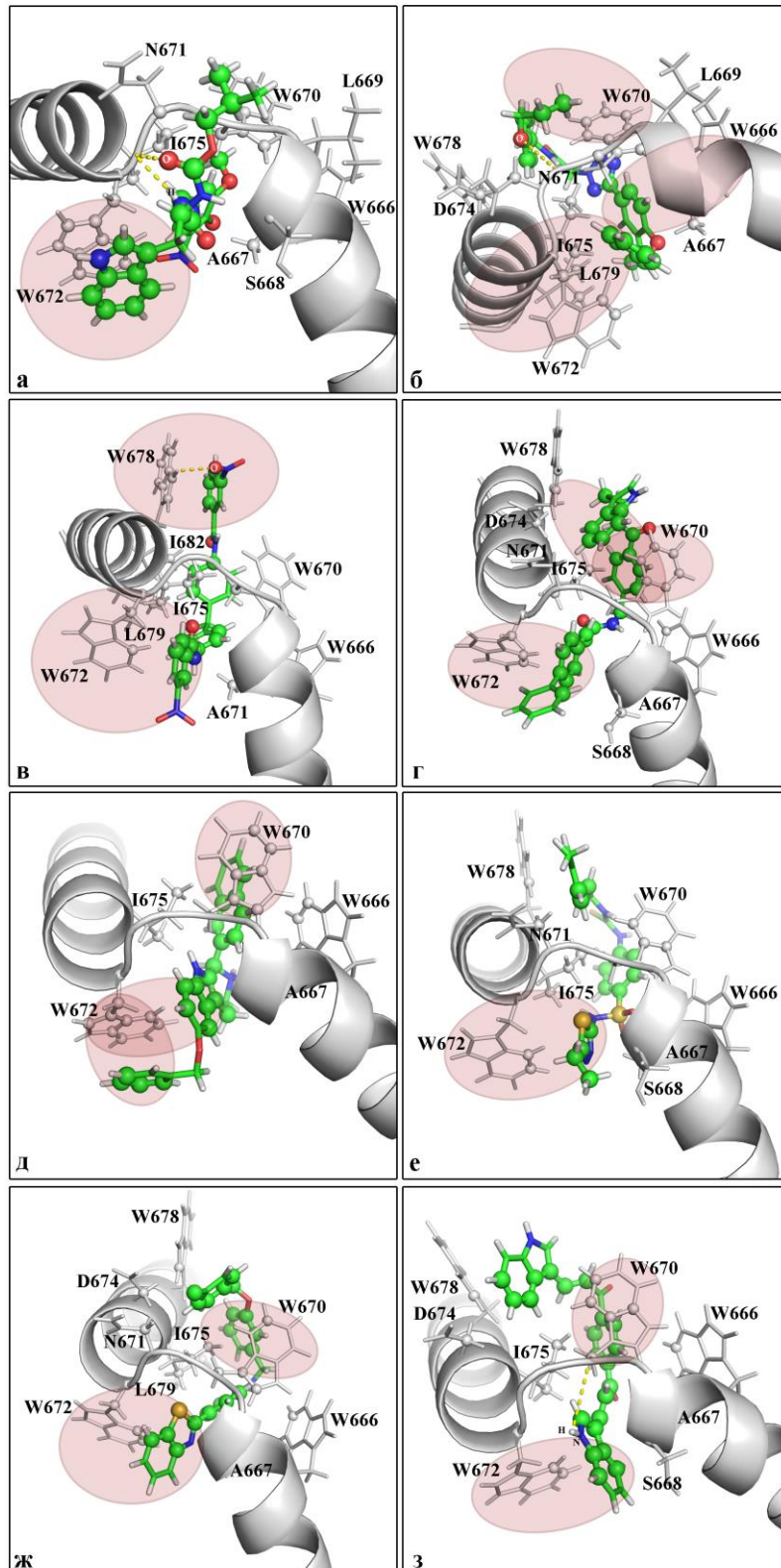


Рис. 4. Структурные комплексы соединений MMs03555010 (а), MMs03769994 (б), MMs01288397 (в), MMs02374310 (г), MMs03064646 (д), MMs03534576 (е), MMs01100460 (ж) и MMs00760407 (з) с пептидом MPER белка gp41 ВИЧ-1. Соединения изображены с использованием молекулярной модели “шарик–палочка”. Приведены аминокислотные остатки пептида MPER, образующие межатомные контакты с лигандами (табл. 4). Нумерация остатков пептида соответствует их позициям в аминокислотной последовательности белка gp41. Элементы структуры лигандов и пептида MPER, участвующие в π - π взаимодействиях, выделены с помощью окружностей. Межмолекулярные водородные связи показаны пунктирными линиями.

Таблица 4. Данные о межмолекулярных взаимодействиях, реализующихся в структурных комплексах потенциальных пептидомиметиков МКА 10Е8 с пептидом МРЕР белка gp41 ВИЧ-1

Пептидомиметик	π - π взаимодействия ¹	Ван-дер-ваальсовы контакты ²	Водородные связи ³
MMs03555010	1...W672(π)	W666(6), A667(5), S668(3), L669(2), W670(13), N671(3), W672(28), I675(7)	O*...HN[W672] NH*...N[W670]
MMs03769994	1... W670(T) 2... W666(π) 3... W672(π)	W666(3), A667(12), L669(1), W670(23), N671(2), W672(11), D674(1), I675(10), W678(1), L679(2)	O*...HN[N671]
MMs01288397	2... W678(π) 1... W672(T)	W666(1), A667(11), W670(2), W672(8), I675(8), W678(13), L679(1), I682(1)	O*...HN[W678]
MMs02374310	1... W672(T) 2... W670(T) 3... W670(T)	W666(4), A667(10), S668(3), W670(19), N671(3), W672(13), D674(2), I675(11), W678(3)	–
MMs03064646	1... [W672](π) 2... W672(T) 3... W670(T)	W666(4), A667(9), W670(11), W672(22), I675(10)	–
MMs03534576	1... W672(T)	W666(7), A667(10), S668(3), W670(6), N671(3), W672(7), D674(3), I675(12), W678(5)	–
MMs01100460	1... W672(T) 2... W670(T)	W666(1), A667(5), W670(5), N671(1), W672(8), D674(1), I675(14), W678(3), L679(1)	–
MMs00760407	1... W670(T) 2... W672(T)	W666(1), A667(10), S668(2), W670(11), W672(11), D674(1), I675(13), W678(5)	NH*...[W670]

¹Первыми указаны номера ароматических колец пептидомиметиков (рис. 3), а вторыми – аминокислотные остатки белка gp41. В круглых скобках приведен тип π - π взаимодействий: π - π -стэкинг, T-T-стэкинг.

²Представлены аминокислотные остатки белка gp41, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с пептидомиметиками. В круглых скобках указано число контактов.

³Первыми указаны доноры или акцепторы водородной связи, принадлежащие молекуле пептидомиметика (рис. 3), а вторыми – соответствующие функциональные группы остатков белка gp41, приведенных в квадратных скобках в однобуквенном коде.

Визуализация структурных комплексов, построенных методами молекулярного докинга (рис. 4), показывает, что во всех рассматриваемых случаях обнаруженные в

базе данных MMsINC соединения блокируют расположенную между двумя α -спиралями “шарнирную” область пептида MPER белка gp41. Эта область эктодомена gp41 обеспечивает конформационную подвижность участка MPER, необходимую для проявления им функциональной активности в процессе слияния мембран [43]. При этом важную роль играют остатки Asn-671 и Asp/Asn-674 белка gp41, о чем свидетельствуют эксперименты с мутантными формами пептида MPER, в которых эти аминокислоты замещены на аланин [43]. Согласно данным рентгеноструктурного анализа [16], МКА 10E8 взаимодействует с “шарнирной” областью участка MPER белка gp41. При этом Trp-672, непосредственно примыкающий к данной области, представляет одну из ключевых аминокислот линейного эпитопа, используемого антителом для специфического связывания с белком gp41 [16]. Полученные структурные данные о межмолекулярных взаимодействиях, реализующихся в структурных комплексах лиганд/gp41 (рис. 4), позволяют предположить, что, как и в случае МКА 10E8, именно этот консервативный остаток триптофана участка MPER может выступать в роли триггера, запускающего механизм “узнавания” лигандами белка gp41, базирующийся на специфических π - π взаимодействиях между π -сопряженными системами их ароматических колец и боковой цепи Trp-672.

Результаты молекулярного докинга показывают, что соединения, найденные с помощью компьютерного скрининга базы данных MMsINC, могут проявлять функциональную мимикрию с МКА 10E8. Согласно расчетным данным, эти соединения, как и антитело, связываются с линейным эпитопом, расположенным в шарнирной области участка MPER, и блокируют аминокислотные остатки белка gp41, ответственные за слияние мембран вируса и клетки-мишени. На рис. 5 показаны совмещенные структуры комплексов пептида MPER с Fab-фрагментом МКА 10E8 и идентифицированными соединениями. Как видно из рис. 5, эти соединения перекрываются в пространстве с сегментом Trp-33, Gly-52c, Pro-52b, Glu-53, Lys-97 тяжелой цепи антитела, частично имитируя его взаимодействия с участком MPER белка gp41. В связи с этим отметим, что данный сегмент паратопа МКА 10E8 включает остатки, формирующие межатомные контакты с функционально важными аминокислотами белка gp41. В частности, Trp-33, Glu-53 и Lys-97 антитела взаимодействуют с Trp-672 белка gp41, а Gly-52c – с Trp-670 [16]. Как уже отмечалось, все анализируемые соединения вовлечены в специфические взаимодействия с этими консервативными остатками триптофана (табл. 4), участвующими в дестабилизации вирусной мембраны в процессе ее слияния с клеткой-хозяином [41, 42]. Кроме того, Glu-53 и Trp-33 МКА 10E8 контактируют с Phe-673 пептида MPER, а Gly-52c – с Ser-668 и Leu-669 [16]. Завершая анализ результатов молекулярного докинга, отметим, что, несмотря на небольшие размеры, обнаруженные соединения формируют большее, по сравнению с МКА 10E8, число контактов с участком MPER белка gp41. По данным работы [16], антитело 10E8 образует 32 межатомных контакта с gp41, которые включают водородные связи, солевые мостики и ван-дер-ваальсовы взаимодействия (см. дополнительную информацию к статье [16] на сайте <http://www.nature.com/nature/journal/v491/n7424/full/nature11544.html#supplementary-information>). В то же время для потенциальных пептидомиметиков 10E8 их минимальное количество (без учета π - π взаимодействий) равно 39-ти (соединение MMs01100460), а максимальное – 69-ти (MMs03555010) (табл. 4).

Таким образом, проведенные расчеты показывают, что найденные в базе данных MMsINC химические соединения характеризуются близким механизмом взаимодействия с участком MPER ВИЧ-1, основу которого формируют специфические π - π взаимодействия и ван-дер-ваальсовы контакты, приводящие к блокаде

аминокислотных остатков белка gp41, ответственных за слияние оболочки вируса с мембраной клетки-мишени.

Данные молекулярной динамики структурных комплексов потенциальных пептидомиметиков МКА 10E8 с пептидом MPER белка gp41 согласуются с выводами, сделанными на основе анализа результатов молекулярного докинга. Структурные комплексы, построенные методами молекулярного докинга, энергетически стабильны, о чем свидетельствуют средние значения свободной энергии их образования и соответствующие им величины стандартных отклонений (табл. 5). Анализ средних значений энтальпии связывания с лигандами, вычисленных для каждого остатка пептида MPER (табл. 6), позволил идентифицировать аминокислоты белка gp41, играющие ключевую роль в стабилизации структурных комплексов. Из данных табл. 6 следует, что практически во всех рассматриваемых случаях весомый вклад в энтальпийную составляющую свободной энергии образования комплексов вносят консервативные остатки Trp-666, Trp-670 и Trp-672 белка gp41, наличие которых необходимо для функционирования участка MPER ВИЧ-1 [41, 42]. Этот вывод также относится к остатку Pe-675 (табл. 6), расположенному в функционально важной “шарнирной” области эктодомена gp41 [43, 44]. Семь из восьми лигандов используют в качестве “горячих точек” связывания остатки Trp-678 и Leu-679 белка gp41 (в первом случае исключение составляет соединение MMs03555010, а во втором – MMs03064646). Шесть соединений – MMs03555010, MMs03769994, MMs01288397, MMs02374310, MMs01100460 и MMs00760407 – эффективно взаимодействуют с остатком Arg-683 белка gp41, представляющим одну из четырех аминокислот, критических для специфического связывания МКА 10E8 с молекулярной мишенью [16].

Таблица 5. Средние значения свободной энергии $\langle \Delta G \rangle$ образования комплексов потенциальных пептидомиметиков МКА 10E8 с пептидом MPER белка gp41 ВИЧ-1 и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD}

Пептидомиметик	$\langle \Delta H \rangle$ ккал/моль	$(\Delta H)_{\text{STD}}$ ккал/моль	$\langle T\Delta S \rangle$ ккал/моль	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$ ккал/моль	$\langle \Delta G \rangle$ ккал/моль	ΔG_{STD} ккал/моль
MMs03555010	-35.2	4.0	-19.2	2.9	-16.1	3.4
MMs03769994	-29.3	5.7	-17.3	4.0	-12.0	4.8
MMs01288397	-30.3	6.3	-23.0	3.7	-7.3	4.8
MMs02374310	-26.8	4.5	-19.9	3.4	-7.2	3.9
MMs03064646	-23.7	5.5	-17.1	3.6	-6.6	4.4
MMs03534576	-25.4	4.6	-19.7	3.6	-5.7	4.0
MMs01100460	-24.9	3.5	-19.5	3.7	-5.4	3.6
MMs00760407	-21.8	3.6	-16.5	5.5	-5.3	4.5

Примечание: $\langle \Delta H \rangle$ и $\langle T\Delta S \rangle$ – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии; $(\Delta H)_{\text{STD}}$ и $(T\Delta S)_{\text{STD}}$ – соответствующие этим значениям стандартные отклонения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, данные молекулярного моделирования позволяют предположить, что 8 химических соединений (рис. 3), обнаруженных в базе данных MMsINC [26], способны имитировать фармакофорные свойства Fab-фрагмента МКА 10E8 путем специфических и эффективных взаимодействий с участком МPER белка gp41, критическим для слияния вируса с клеткой-хозяином [41, 42]. При этом важную роль играют π - π взаимодействия между π -сопряженными системами их ароматических колец и боковой цепи Trp-672, представляющим одну из ключевых аминокислот линейного эпитопа, используемого антителом для специфического связывания с белком gp41 [16]. Как и МКА 10E8, найденные соединения блокируют расположенную между двумя α -спиралями “шарнирную” область пептида МPER, которая обеспечивает его конформационную подвижность, необходимую для проявления функциональной активности белка gp41 в процессе слияния мембран [43].

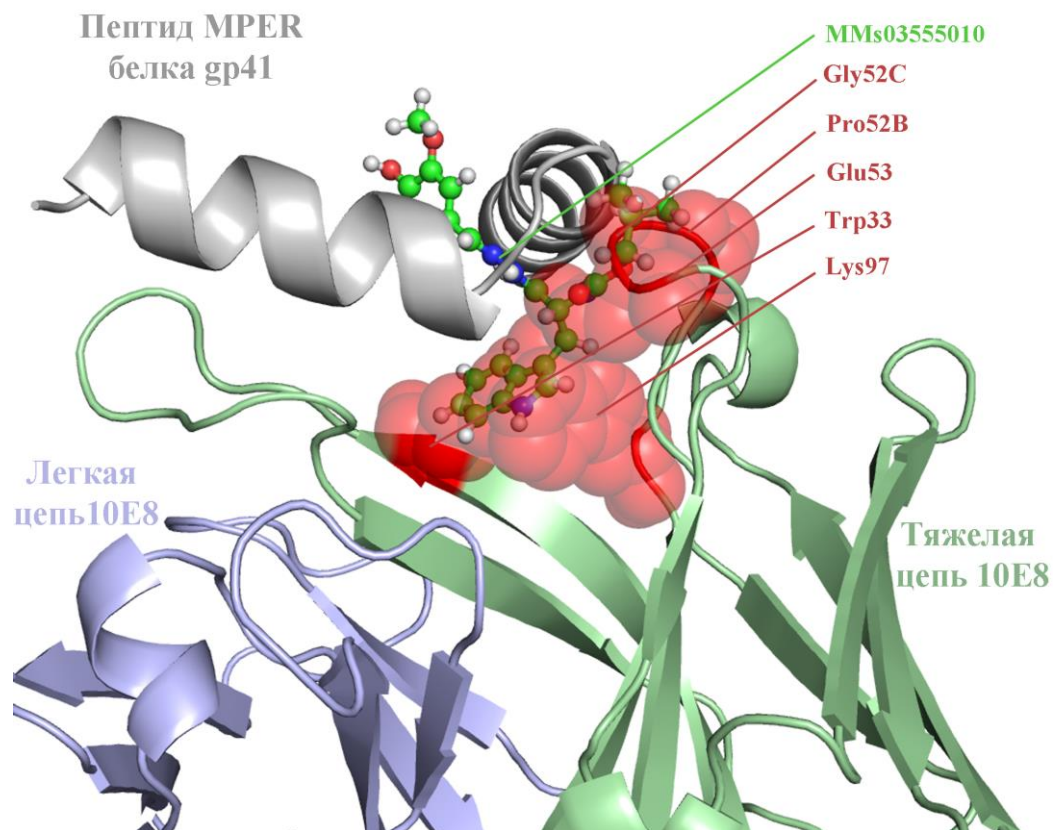


Рис. 5. Совмещенные структуры комплексов пептида МPER gp41 с Fab-фрагментом МКА 10E8 и соединением МMs03555010. Координаты атомов комплекса gp41/10E8 заимствованы из Банка данных белков (код 4G6F; <http://www.rcsb.org/pdb/>) [20, 21]. Комплексы пептида с остальными семью лигандами перекрываются с надмолекулярной структурой gp41/MMs03555010. Молекула МMs03555010 изображена с использованием модели “шарик-палочка”. Сегмент Trp-33, Gly-52c, Pro-52b, Glu-53, Lys-97 тяжелой цепи антитела показан с помощью шаровой модели.

Идентифицированные соединения могут быть использованы в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния ВИЧ, блокирующих участок МPER белка gp41.

Таблица 6. Средние значения энтальпии связывания аминокислотных остатков участка MPER белка gp41 с потенциальными миметиками МКА 10E8

Остаток белка gp41	Пептидомиметик МКА 10E8							
	MMs 03555010	MMs 03769994	MMs 01288397	MMs 02374310	MMs 03064646	MMs 03534576	MMs 01100460	MMs 00760407
	Энтальпия связывания (ккал/моль)							
Glu-662	-3.3	-0.3	-0.5	-0.2	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
Leu-663	-2.9	-3.5	-1.9	-1.4	-1.5	-1.1	-1.4	-1.3
Asp-664	-0.1	-0.2	-0.1	-0.1	-1.6	-0.1	-0.02	-0.04
Lys-665	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.3	-0.1	-0.3	-0.14
Trp-666	-2.5	-3.3	-3.4	-2.9	-2.1	-5.0	-3.4	-2.3
Ala-667	-5.4	-0.8	-0.6	-1.5	-2.0	-3.1	-0.9	-0.4
Ser-668	-2.1	-0.04	-0.03	-0.1	-0.1	-1.7	-0.1	-0.1
Leu-669	-0.9	-0.2	-0.1	-0.2	-0.3	-2.8	-0.4	-1.2
Trp-670	-6.4	-2.0	-1.2	-1.7	-1.8	-3.8	-3.9	-4.2
Asn-671	-2.7	-0.1	-0.1	-0.5	-1.5	-0.04	-0.6	-0.3
Trp-672	-3.6	-1.2	-3.7	-1.9	-5.6	-0.02	-1.8	-1.3
Phe-673	-0.2	-0.03	-1.0	0.01	-0.4	-0.01	-0.05	-0.12
Asp-674	-0.2	-0.3	-0.2	-0.1	-0.5	-0.1	-0.2	-0.4
Ile-675	-2.8	-2.7	-2.4	-1.7	-1.5	-1.4	-2.8	-2.0
Thr-676	-0.8	-0.2	-2.5	-0.1	-0.03	-0.1	-0.4	-0.6
Asn-677	-0.02	-0.1	-0.2	-0.04	-0.1	-0.1	-0.1	-0.14
Trp-678	-0.1	-4.5	-3.2	-1.8	-1.7	-2.5	-1.9	-2.3
Leu-679	-0.8	-1.9	-2.6	-1.9	-0.1	-0.9	-1.6	-1.6
Trp-680	-0.01	-0.1	-0.6	-0.1	0.0	-0.2	-0.1	-0.1
Tyr-681	0.0	-0.1	-0.4	-0.9	-0.04	-1.4	-0.2	-0.1
Ile-682	-0.2	-0.8	-1.6	-3.2	-0.04	-1.7	-0.8	-1.4
Arg-683	-2.4	-0.9	-1.0	-3.2	0.02	-0.2	-0.9	-1.1

Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект X15-022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. De Clercq E. New approaches toward anti-HIV chemotherapy. *J. Med. Chem.* 2005. V. 48. P. 1297–1313.
2. Este J.A., Telenti A. HIV entry inhibitors. *Lancet.* 2007. V. 370. P. 81–88.

3. Rusconi S., Scozzafava A., Mastrolorenzo A., Supuran C.T. An update in the development of HIV entry inhibitors. *Curr. Topics in Med. Chem.* 2007. V. 7. P. 1273–1289.
4. Ryser H.J.P., Fluckiger R. Progress in targeting HIV-1 entry. *Drug Discov. Today.* 2005. V. 10. P. 1085–1094.
5. Adamson C.S., Freed E.O. Novel approaches to inhibiting HIV-1 replication. *Antiviral Res.* 2010. V. 85. P. 119–141.
6. Tilton J.C., Doms R.W. Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. *Antiviral Res.* 2010. V. 85. P. 91–100.
7. Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. № 4. doi: [10.1101/cshperspect.a007161](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007161).
8. Orsega S. Treatment of adult HIV infection: antiretroviral update and overview. *JNP.* 2007. V. 10. P. 612–624.
9. Hartley O., Klasse P. J., Sattentau Q.J., Moore J.P. V3: HIV's switch-hitter. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2005. V. 21. P. 171–189.
10. Sirois S., Sing T., Chou K.C. HIV-1 gp120 V3 loop for structure-based drug design. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2005. V. 6. P. 413–422.
11. Andrianov A.M. HIV-1 gp120 V3 loop for anti-AIDS drug discovery: computer-aided approaches to the problem solving. *Expert Opin. Drug Discov.* 2011. V. 6. P. 419–435.
12. Hoxie J.A. Toward an antibody-based HIV-1 vaccine. *Annu. Rev. Med.* 2010. V. 61. P. 135–152.
13. Walker L.M., Burton D.R. Rational antibody-based HIV-1 vaccine design: current approaches and future directions. *Curr. Opin. Immunol.* 2010. V. 22. P. 358–366.
14. Kwong P.D., Mascola J.R., Nabel G.J. Rational design of vaccines to elicit broadly neutralizing antibodies to HIV-1. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2011. V. 1. № 1. doi: [10.1101/cshperspect.a007278](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007278).
15. McCoy L.E., Weiss R.A. Neutralizing antibodies to HIV-1 induced by immunization. *J. Exp. Med.* 2013. V. 210. P. 209–223.
16. Huang J., Ofek G., Laub L., Louder M.K., Doria-Rose N.A., Longo N.S., Imamichi H., Bailer R.T., Chakrabarti B., Sharma S.K., Munir Alam S., Wang T., Yang Y., Zhang B., Migueles S.A., Wyatt R., Haynes B.F., Kwong P.D., Mascola J.R., Connors M. Broad and potent neutralization of HIV-1 by a gp41-specific human antibody. *Nature.* 2012. V. 491. P. 406–414.
17. Андрианов А.М., Кашин И.А., Тузиков А.В. Компьютерный поиск новых анти-ВИЧ-1 агентов – пептидомиметиков нейтрализующих антител – и оценка их потенциальной ингибиторной активности методами молекулярного моделирования. *Математическая биология и биоинформатика.* 2013. Т. 8. № 1. С. 119–134. doi: [10.17537/2013.8.119](https://doi.org/10.17537/2013.8.119)
18. Кашин И.А., Тузиков А.В., Андрианов А.М. Виртуальный скрининг новых ингибиторов проникновения ВИЧ-1, блокирующих CD4-связывающий участок белка gp120 оболочки вируса. *Математическая биология и биоинформатика.* 2014. Т. 9. № 2. С. 359–372. doi: [10.17537/2014.9.359](https://doi.org/10.17537/2014.9.359)
19. Floris M., Masciocchi J., Fanton M., Moro S. Swimming into peptidomimetic chemical space using pepMMsMIMIC. *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. P. 261–269.
20. Bernstein F.C., Koetzle T.F., Williams G.J.B., Meyer E.F., Brice M.D., Rodgers J.R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi M. The protein data bank. A computer-based archival file for macromolecular structures. *J. Mol. Biol.* 1977. V. 112. P. 535–542.
21. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucl. Acids Res.* 2000. V. 28. P. 235–242.
22. Case D.A., Darden T.A., Cheatham T.E., Simmerling C.L., Wang J., Duke R.E., Luo R., Crowley M., Walker R.C., Zhang W., Merz K.M., Wang B., Hayik S., Roitberg A., Seabra G., Kolossváry I., Wong K.F., Paesani F., Vanicek J., Wu X., Brozell S.R.,

- Steinbrecher T., Gohlke H., Yang L., Tan C., Mongan J., Hornak V., Cui G., Mathews D.H., Seetin M.G., Sagui C., Babin V., Kollman P.A. *AMBER 11. Users' Manual*. San Francisco: University of California, 2010. 302 p.
23. Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein M.L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* 1983. V. 79. P. 926–935.
 24. Ryckaert J.P., Ciccotti G., Berendsen H.J.C. Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.* 1977. V. 23. P. 327–341.
 25. Massova I., Kollman P.A. Computational alanine scanning to probe protein-protein interactions: a novel approach to evaluate binding free energies *J. Am. Chem. Soc.* 1999. V. 121. P. 8133–8143.
 26. Masciocchi J., Frau G., Fanton M., Sturlese M., Floris M., Pireddu L., Palla P., Cedrati F., Rodriguez-Tome P., Moro S. MMsINC: a large-scale chemoinformatics database. *Nucl. Acids Res.* 2009. V. 37. P. D284–D290.
 27. Ballester P.J., Richards W.G. Ultrafast shape recognition to search compound databases for similar molecular shapes. *J. Comput. Chem.* 2007. V. 28. P. 1711–1723.
 28. Mason J.S., Morize I., Menard P.R., Cheney D.L., Hulme C., Labaudiniere R.F. New 4-point pharmacophore method for molecular similarity and diversity applications: overview of the method and applications, including a novel approach to the design of combinatorial libraries containing privileged substructures. *J. Med. Chem.* 1999. V. 42. P. 3251–3264.
 29. Karnachi P., Kulkarni A. Application of pharmacophore fingerprints to structure-based design and data mining. In: *Pharmacophores and Pharmacophore Searches*. Eds. Langer T., Hoffmann R.D. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. P. 193–206.
 30. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2001. V. 46. P. 3–26.
 31. Drug Likeness Tool (DruLiTo) HomePage. URL: http://www.niper.gov.in/pi_dev_tools/DruLiToWeb/DruLiTo_index.html (дата обращения: 21.07.2015).
 32. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.* 2010. V. 31. P. 455–461.
 33. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009. V. 30. P. 2785–2791.
 34. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore: A neural-network-based scoring function for the characterization of protein-ligand complexes. *J. Chem. Inf. Model.* 2010. V. 50. P. 1865–1871.
 35. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore 2.0: a neural-network receptor-ligand scoring function. *J. Chem. Inf. Model.* 2011. V. 51. P. 2897–2903.
 36. Ballester P.J., Mitchell J.B.O. A machine learning approach to predicting protein–ligand binding affinity with applications to molecular docking. *Bioinformatics.* 2010. V. 26. P. 1169–1175.
 37. Cao Y., Li L. Improved protein–ligand binding affinity prediction by using a curvature-dependent surface-area model. *Bioinformatics.* 2014. V. 30. P. 1674–1680.
 38. Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case D.A. Development and testing of a general amber force field. *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. P. 1157–1174.
 39. Durrant J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. *J. Mol. Graph. Model.* 2011. V. 29. P. 888–893.
 40. McDonald I.K., Thornton J.M. Satisfying hydrogen bonding potential in proteins. *J. Mol. Biol.* 1994. V. 238. P. 777–793.

41. Munoz-Barroso I., Salzwedel K., Hunter E., Blumenthal R. Role of the membrane-proximal domain in the initial stages of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein-mediated membrane fusion. *J. Virol.* 1999. V. 73. P. 6089–6092.
42. Salzwedel K., West J.T., Hunter E. A conserved tryptophan-rich motif in the membrane-proximal region of the human immunodeficiency virus type 1 gp41 ectodomain is important for Env-mediated fusion and virus infectivity. *J. Virol.* 1999. V. 73. P. 2469–2480.
43. Cheng Y. Elicitation of antibody responses against the HIV-1 gp41 Membrane Proximal External Region (MPER): doctoral dissertation, Harvard University. *Digital Access to Scholarship at Harvard.* 2014. URL: <http://nrs.harvard.edu/urn-3:HUL.InstRepos:12269838> (дата обращения: 21.07.2015).
44. Sun Z.Y.J., Cheng Y., Kim M., Song L., Choi J., Kudahl U.J., Brusica V., Chowdhury B., Yu L., Seaman M.S., Bellot G., Shih W.M., Wagner G., Reinherz E.L. Disruption of helix-capping residues 671 and 674 reveals a role in HIV-1 entry for a specialized hinge segment of the membrane proximal external region of gp41. *J. Mol. Biol.* 2014. V. 426. P. 1095–1108.

Материал поступил в редакцию 21.07.2015, опубликован 07.09.2015.